Zur Kenntnis der Symbiose eines Pilzes mit dem Taumellolch

von

A. Nestler.

(Mit 1 Tafel.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 3. November 1904.)

I.

Das so innige Zusammenleben eines Pilzes mit einer höheren Pflanze, wie wir es beim Taumellolch finden, wobei der Pilz stets eine ganz bestimmte Lage in der Frucht — zwischen Aleuronschichte und dem Nuzellarreste — einnimmt, niemals durch das Aleurongewebe in das Stärkeendosperm eindringt, aber auch im Vegetationskegel vorkommt, beim Auskeimen der Frucht ebenfalls zur Entwicklung angeregt wird, durch den ganzen Halm emporwächst und wieder in die jungen Fruchtanlagen eines jeden Ährchens gelangt, ist gewiß einer näheren Beachtung wert, zumal dieses merkwürdige Verhältnis einige interessante Fragen anregt.

Der Pilz gelangt nicht in die Wurzeln, auch nicht in die Blätter, sondern folgt, wie durch einen bestimmten Reiz veranlaßt, beständig nur dem Vegetationspunkte des Halmes. Die Pflanze erleidet durch den Pilz, der natürlich nur von seinem Wirt die notwendige Nahrung erhält, durchaus keine Schädigung; die Früchte sind sogar, wie wir sehen werden, gegenüber starken Sublimatlösungen und andern Giften sehr widerstandsfähig; ihre Keimung ist unter normalen Verhältnissen eine ausgezeichnete und, so weit meine Erfahrung reicht, weit besser als die andrer Loliumarten.

Der Nutzen, den der Pilz seiner Wirtspflanze gewährt, liegt vielleicht in analoger Weise — wie (nach Frank und Stahl) bei der endotrophen Mykorrhiza gewisser Orchideenknollen — darin, daß, wie ich bereits früher[1] nachgewiesen habe und neuerdings Freeman[2] bestätigt hat, beim Keimen der Frucht die Pilzhyphen vollständig aufgelöst werden, daß also ihre Eiweißstoffe der Pflanze möglicherweise zugute kommen.

Diese Leistung vorausgesetzt, können wir das Verhältnis jenes Pilzes zum Taumellolch als eine echte Symbiose bezeichnen, welche in vielfacher Hinsicht von großem Interesse ist.

Es ist zunächst zu bemerken, daß nach einer interessanten Untersuchung Lindau's[3] Taumellolchfrüchte aus altägyptischen Gräbern, deren Alter auf 4000 Jahre geschätzt wird, den charakteristischen Pilz in derselben Form und Lagerung zeigen, wie das gegenwärtig in Ägypten vorkommende *Lolium temulentum* und daß somit, soweit die ägyptische Flora in Betracht kommt, in dem Verhältnisse dieses Pilzes zu seiner Wirtspflanze sich seit 4000 Jahren nichts geändert hat. Daß das auch für Europa gilt, ist wahrscheinlich; es läßt sich aber schwerlich nachweisen, da man hier so alte Loliumfrüchte kaum finden dürfte. Nach den Untersuchungen von Guérin[4] ist sicher, daß das gegenwärtig in Südamerika, Asien und Afrika vorkommende *L. temulentum* bezüglich des Pilzes dieselben Verhältnisse zeigt, wie der europäische Taumellolch.

Das gegenwärtig über alle Erdteile verbreitete *L. temulentum* zeigt somit überall jenes interessante symbiotische Verhältnis, das, nach den Untersuchungen des altägyptischen Taumellolchs zu schließen, wahrscheinlich uralt ist.

---

[1] A. Nestler, Über einen in der Frucht von *L. temulentum* L. vorkommenden Pilz. — Ber. der deutsch. bot. Ges. 1898. p. 213.

[2] E. M. Freeman, The Seed-fungus of *L. temulentum* L., the Darnel. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 1903, p. 1 bis 27.

[3] G. Lindau, Über das Vorkommen des Pilzes des Taumellolchs in altägyptischen Samen. Sitz. der kgl. Preuß. Akad. der Wiss., XXXV, 1904.

[4] P. Guérin, Sur la présence d'un Champignon dans l'Ivraie. — Journ. de Bot., 1898, p. 230 bis 238.

Wir können wohl annehmen, daß der Taumellolch ursprünglich pilzfrei war und daß seine Früchte durch einen parasitischen Pilz häufig infiziert wurden, der gerade bei dieser Pflanze ihm sehr zusagende Nährbedingungen vorfand. Durch diese Infektion dürften viele Loliumfrüchte in analoger Weise, wie ich es später für *L. perenne* und *L. italicum* nachweisen werde, zu Grunde gegangen sein; einige jedoch zeigten eine solche Widerstandskraft, daß sie trotz der Anwesenheit des Pilzes in unmittelbarer Nähe des Endospermgewebes und im Vegetationskegel keine Schwächung ihres Keimvermögens erfuhren. Es scheint in diesen Fällen namentlich die Aleuronschicht dem Vordringen des Pilzes zu den Reservestoffen der Frucht einen energischen Widerstand geleistet zu haben; denn es ist auffallend, daß man bei keiner, mit der charakteristischen Pilzschicht versehenen Frucht ein derartiges Eindringen des Pilzes, wie es bei *L. perenne* und *L. italicum* öfters beobachtet werden kann, gefunden hat.

Diese widerstandsfähigen Individuen behaupteten sich also gegenüber den schwächeren Formen, deren Zahl allmählich immer geringer wurde.

Von wesentlicher Bedeutung ist nun die Frage, ob gegenwärtig alle *L. temulentum*-Früchte den Pilz haben oder ob es auch pilzfreie Individuen gibt.

Nach Vogl[1] haben die meisten Körner von *L. temulentum* den Pilz; er konstatierte also auch pilzfreie Körner.

Hanausek[2] dagegen untersuchte viele Hunderte von Körnern und fand kein einziges pilzfrei. — Im Jahre 1898 habe ich im Versuchsgarten des pflanzenphysiologischen Institutes zu Prag (deutsche Universität) ein Beet mit *L. temulentum* beflanzt, von welcher Kultur ich noch heute eine große Anzahl von Ähren besitze. Von den gegenwärtig untersuchten zahlreichen Pflanzen zeigte jede den Pilz, jedes Korn hatte seine charakteristische Hyphenschicht.

---

[1] A. E. Vogl, Zeitschrift für Nahrungsmitteluntersuchung, Hygiene und Warenkunde, 1898, p. 28.

[2] T. F. Hanausek, Vorläufige Mitteilung über den von A. Vogl in der Frucht von *L. temulentum* entdeckten Pilz. Ber. der Deutsch. bot. Ges., 1898, p. 203.

Freeman[1] hat Taumellolchpflanzen aus verschiedenen botanischen Gärten Europas (Bonn, Gent, Upsala, Marseilles, Vallombrosa, Lemberg, München, Lyon und Cambridge) untersucht und konnte mit wenigen Ausnahmen den Pilz konstatieren; im allgemeinen sollen über 95% Samenkörner den Pilz haben, daher eine kleine Anzahl pilzfrei sei. Er nimmt daher zwei Formen von *L. temulentum* an, eine pilzhaltige und eine pilzfreie, letztere also in bedeutender Minderzahl. Diejenigen Körner, welche den Pilz enthalten, sollen nach Freeman besser entwickelt und größer sein als die pilzfreien.

Ohne auf die aus dieser angeblichen Tatsache zu ziehenden Konsequenzen bezüglich einer eventuellen von außen erfolgenden Infektion jener pilzfreien Pflanzen durch Sporen näher einzugehen, möchte ich nur aus meinen eigenen Untersuchungen hervorheben, daß die Größe der (stets als pilzhaltig befundenen) Körner eines Ährchens sehr verschieden ist. Jedes Ährchen hat vier bis sechs normal gebaute Früchte und gewöhnlich außerdem noch an der Spitze eine sterile Fruchtanlage.

Das unterste Korn ist stets relativ bedeutend länger und dicker als das oberste, normal ausgebildete, welches gleichfalls in der bekannten Weise die Hyphenschichte zeigt; z. B. unterste Frucht eines Ährchens 7 *mm* lang, oberste normale Frucht 5 *mm* lang und dünner als die unterste; oder: unterste Frucht 7 *mm* lang, oberste nur 4·5 *mm* lang, sehr schmal.

In verhältnismäßig sehr kleinen, scheinbar verkümmerten, aber, wie die nähere Untersuchung zeigte, doch vollständig ausgebildeten Früchten habe ich stets die charakteristische Hyphenschichte gefunden. Man kann also aus der Größe der Frucht durchaus nicht auf das Fehlen oder Vorhandensein des Pilzes schließen. So interessant es wäre, mit pilzfreien Früchten experimentieren zu können, um zu erfahren, ob vielleicht doch ursprünglich pilzfreie Taumellolchpflanzen nachträglich von außen durch Sporen infiziert werden, so scheitern meines Erachtens diese Experimente daran, daß man pilzfreie Früchte nicht nach der äußern Form, sondern nur durch mechanische Eingriffe vollkommen sicher erkennen könnte. Wenn man selbst

[1] L. c., p. 18.

annimmt, daß die zum Nachweis des Pilzes vorzunehmenden Verletzungen in der Region des Aleurongewebes nicht so bedeutend zu sein brauchen, um die Keimfähigkeit des Kornes vollkommen zu vernichten, so bliebe immer noch die Frage offen, ob in dem Falle, wo in der Region der Aleuronschichte kein Pilz gefunden wurde, nicht doch bereits der Vegetationskegel der Frucht infiziert war. Da ich bei meinen vielfachen Untersuchungen leider keine einzige pilzfreie Frucht finden konnte, war ich auch nicht in der Lage, mich davon überzeugen zu können, ob jene Annahme sich auch beweisen lasse.

Gesetzt den Fall — ich habe ihn, wie gesagt, niemals gefunden — daß das eine oder andere Korn einer vorliegenden Ähre wirklich pilzfrei ist, so kann man daraus noch nicht den Schluß ziehen, daß alle Körner pilzfrei sind.

Bei meinen Untersuchungen über das Vorkommen des Pilzes in den Früchten von *L. temulentum* habe ich auch die sterilen Fruchtanlagen beachtet. An der Basis, also in dem kleinen Stielchen einer solchen Anlage, welche stets nur aus zwei Spelzen oder aus Spelzen und verkümmerten Staubgefäßen besteht, wurde niemals eine Spur des Pilzes gefunden. Dagegen zeigten die Staubbeutel solcher Anlagen, namentlich in den Winkeln der Pollenfächer, stets zahlreiche Myzelfäden, deren Dicke und Form dem charakteristischen Pilz der normalen Frucht entsprechen. Es läßt sich jedoch daraus kein Schluß auf die Identität jener Pilze ziehen; auch war, wie schon gesagt, eine Verbindung des Pilzes der sterilen Fruchtanlage mit dem Pilze des Ährchens beziehungsweise des Halmes niemals nachweisbar. Auch an der Innenseite der Spelzen wurden Hyphen und Konidien gefunden, die aber sicher nicht dem bewußten Taumellolchpilz angehören.

II.

Der Pilz in der Frucht von L. perenne L. und L. italicum A. Br.

a) Lolium perenne L.

Anders als bei *L. temulentum* liegen die Verhältnisse bezüglich des Vorkommens eines Pilzes an bestimmter Stelle der Frucht bei *L. perenne.*

Ich habe seinerzeit[1] Früchte dieses Grases, welche aus dem botanischen Garten (Prag) stammten, untersucht und konnte trotz vielfacher Bemühungen keinen Pilz finden, der dem Taumellolchpilz entsprochen hätte.

Guérin[2] gibt an, daß er bei *L. perenne* nur ein einziges Mal den charakteristischen Pilz gefunden habe.

Hanausek[3] konnte niemals in diesen Früchten den Pilz nachweisen. L. Hiltner,[4] der Versuche über stickstoffsammelnde Eigenschaften der von dem Pilze bewohnten Loliumpflanzen anstellte, sagt, daß er durch eigene Untersuchungen meine und Hanausek's Beobachtungen in jeder Hinsicht bestätigen konnte. Dagegen haben Neubauer und Remer[5] den Pilz gefunden und der betreffenden Angabe die Bemerkung beigefügt, daß »ein solcher Fund bei *L. perenne* zu den Seltenheiten gehöre«.

Freeman[6] untersuchte 30 Pflanzen, von denen fünf den charakteristischen Pilz in der Frucht zeigten.

Durch diese verschiedenen Angaben veranlaßt, habe ich neuerdings sowohl Früchte (bezogen von Haage und Schmidt, Erfurt) als auch ganze Pflanzen untersucht, welche ich in der Umgebung von Prag gesammelt hatte.

Was nun zunächst die untersuchten einzelnen Früchte anbelangt, so fand ich von 50 Früchten 14 (d. i. 28%) mit Pilzhyphen in verschiedener Lagerung. Es ist notwendig, über die Art des Vorkommens des Pilzes einige nähere Angaben zu machen.

Ein Querschnitt durch eine Frucht zeigte folgende Eigentümlichkeiten:

Zwischen Aleuronschichte und dem Nuzellargewebe deutliche Hyphen eines Pilzes (Fig. 2, *h*), deren Lagerung etwas anders ist als bei *L. temulentum*: die Hyphen sind (nach Beobachtung vieler Schnitte durch diese Frucht) meistens in sehr geringer Menge vorhanden, keine so dicke Schichte wie bei

---

[1] L. c. 208.

[2] Cit. nach Freeman, l. c. p. 2.

[3] L. c. 207.

[4] Cit. nach H. Neubauer, l. c.

[5] H. Neubauer, Über die von A. Vogl entdeckte Pilzschicht in Loliumfrüchten. Zentralbl. für Bakteriologie etc., IX. Bd., 1902, p. 653.

[6] L. c. p. 10.

L. temulentum; die Hyphen in der Regel parallel der Aleuronschichte gestreckt, seltener ein wenig ineinander gewunden, niemals so dicht durcheinander verlaufend wie bei *L. temulentum*; Hyphen gegliedert, die Gliederung namentlich sehr deutlich nach Behandlung mit verdünnter Kalilauge sichtbar (Fig. 3); Dicke der Hyphe 2·4 μ.

Dieselben Hyphen in analoger Lagerung auch an manchen Stellen zwischen Spelze und dem Gewebe der Fruchthaut (Fig. 1, *h*). Nach Form, Dicke und Septierung dieser Hyphen zu schließen, nehme ich an, daß es derselbe Pilz ist, wie der zwischen Aleuron- und Nuzellarschichte. Auf einer herauspräparierten Aleuronschichte (Flächenansicht) wurden zwischen Hyphen auch vereinzelte Konidien gefunden.

Diese auffallende Verteilung des Pilzes in der Frucht wurde einige Male nachgewiesen. In einigen andern Fällen wurden dieselben Hyphen wie früher gefunden, jedoch nur zwischen Spelze und Fruchthaut, nicht zwischen Aleuron- und Nuzellarschichte.

Eine dritte Form: Ein breiter Raum zwischen Aleuron- und Samenschale (von dem Nuzellarreste ist nichts mehr zu sehen) ist vollständig ausgefüllt von wirr durcheinander verlaufenden, jedoch locker angeordneten Hyphen; Form derselben wie in den früheren Fällen. Derselbe Pilz, jedoch in geringer Menge, an manchen Stellen zwischen Spelze und Fruchthaut, wo diese beiden Schichten etwas gelockert sind und einen kleinen Hohlraum freilassen; ferner: Hyphen auch im Stärkeendosperm. (Genau dasselbe Bild, jedoch mit einer andern Pilzart, habe ich bei einem Roggen gefunden, der nach seiner physiologischen Wirkung unbedingt als sogenannter Taumelroggen bezeichnet werden mußte.) Zwischen den Hyphen zahlreiche Konidien: 12 μ lang, 2·4 μ breit.

Bemerkenswert ist ferner folgendes Vorkommen des Pilzes bei *L. perenne*: Hyphen an der Außenseite der Aleuronschichte, also analog wie bei *L. temulentum*, jedoch meist nur sehr spärlich, an manchen Stellen in etwas größerer Menge; diese Schichte geht (am Fruchtquerschnitt betrachtet) rings um die Frucht, ist also auch an der Rinnenseite vorhanden, wo bei *L. temulentum* niemals Pilzhyphen vorkommen. Gleichzeitig ist

bei dieser Frucht von *L. perenne* am Fruchteinschnitte der Pilz auch zwischen Fruchthaut und Samenhaut nachweisbar.

Schon aus diesen Untersuchungen einzelner Früchte von *L. perenne* geht deutlich hervor, daß hier ganz andere Verhältnisse vorliegen als bei *L. temulentum*, nämlich ein Vorkommen eines Pilzes in der Frucht, wie man es in analoger Weise bei jedem Taumelroggen finden kann.

Außer diesen Früchten wurden noch ganze Pflanzen mit eben reifgewordenen Früchten untersucht, welche an verschiedenen Orten um Prag gesammelt worden waren.

Es zeigte sich, daß manche Pflanzen den Pilz weder in der Frucht noch im Halme besaßen; bei anderen wurde konstatiert, daß der Pilz in den Früchten aller Ährchen und im Halme selbst vorhanden war.

Bezüglich des Vorkommens des Pilzes in der Frucht fand ich hier dieselben Verhältnisse, wie sie oben für einzelne Körner angegeben wurden: bald analog dem Vorkommen in in der Frucht von *L. temulentum*, bald wieder in allen Teilen der Frucht, auch im Stärkeendosperm. In einer noch nicht ganz reifen Frucht, bei welcher nur eine Hyphenschichte zwischen Aleuron- und Nuzellargewebe vorkam, zeigten die isolierten Hyphen eine eigentümliche Form (Fig. 4), wie ich sie bei *L. temulentum* niemals beobachtet hatte. Abgesehen von dieser Hyphenform, welche sich bei weiterem Wachstum möglicherweise noch verändert hätte, scheint es wahrscheinlich, daß die Pilzspezies bei *L. perenne* dieselbe sei wie bei *L. temulentum*, daß aber bei *L. perenne* keineswegs dasselbe symbiotische Verhältnis vorliegt wie beim Taumellolch. Ich urteile, daß in jedem einzelnen Falle bei *L. perenne* eine Infektion von außen stattgefunden hat, welche mitunter alle Früchte ergreift, auch in das Stärkeendosperm eindringt und den ganzen Halm infiziert. Je nach den besonderen Verhältnissen des Standortes und der Witterung wird der Parasit auf *L. perenne* sich mehr oder weniger ausbreiten; daher mag es kommen, daß einmal kaum eine Frucht den Pilz enthält, ein andermal wieder verhältnismäßig viele den Parasiten zeigen.

Wenn bei *L. perenne* dieselben Verhältnisse vorlägen wie bei *L. temulentum*, dann müßte sich auch das Eindringen des Pilzes in den entstehenden Halm beim Keimen der Früchte von *L. perenne* nachweisen lassen, wenn man bei einer entsprechenden Kultur von Tag zu Tag die sich entwickelnden Pflänzchen in analoger Weise wie bei *L. temulentum* untersucht. Um hier eine Entscheidung zu treffen, wurden Früchte von *L. perenne* zunächst möglichst gut sterilisiert — $^1/_2{}^h$ in $1^0/_0$ Sublimat, dann zehnmal mit ausgekochtem destilliertem Wasser gewaschen — hierauf in sterilisierte Keimschalen ausgesät.

Resultat: Von 59 Körnern waren 16 (d. i. $27^0/_0$) nicht aufgegangen, 43 entwickelten sich vollkommen normal. Der Prozentgehalt der nicht keimfähigen Früchte ist nahezu derselbe, wie das früher konstatierte Verhältnis der Früchte mit Pilz ($= 28^0/_0$) zu denen ohne Pilz.

Es wurden nun zunächst diese nicht keimfähigen Früchte genau untersucht; alle zeigten Pilzhyphen in verschiedener Anordnung:

a) Hyphenverteilung wie beim Taumelroggen; Vordringen derselben bis in das Stärkeendosperm;

b) Hyphenanordnung wie bei *L. temulentum*, zwischen Aleuron- und Nuzellarschichte, jedoch auch im Gebiete der Fruchtrinne, wo bei *L. temulentum* niemals Hyphen vorkommen;

c) starke Pilzschichte zwischen Aleuron- und Nuzellargewebe, vereinzelt Hyphen zwischen Spelze und Fruchthaut und im Stärkeendosperm.

Es scheint wohl keinem Zweifel zu unterliegen, daß die mehr oder weniger zahlreichen Pilzhyphen die Ursache des Nichtkeimens dieser Früchte sind.

Es wurden nun die gut entwickelten Halme der ausgekeimten Körner untersucht.

Falls wenigstens vereinzelt bei den Früchten von *L. perenne* ein Pilz dieselbe Rolle spielen würde, wie bei *L. temulentum*, so müßte er beim Auskeimen der Frucht in die junge Pflanze gelangen und leicht nachzuweisen sein.

Trotz der sorgfältigsten Untersuchungen dieser Halme, namentlich der Gewebepartien in der Nähe des Vegetations-

kegels und der Knotenpunkte, konnte in keinem Falle die Spur einer Pilzhyphe nachgewiesen werden. (Bringt man eine solche, aus mit Sublimat behandelten Früchten hergestellte Kultur unter Anwendung besonderer Schutzmaßregeln gegen Infektionen bis zur Fruchtreife, so wird man in den neuen Früchten höchst wahrscheinlich vergebens nach einem Pilze zwischen Aleuron- und Nuzellargewebe suchen. Leider konnte ich diesen Versuch heuer nicht mehr ausführen.)

Diese sämtlichen Resulte der Untersuchungen der Früchte und Pflanzen von *L. perenne* bestimmen mich anzunehmen, daß das Vorkommen eines Pilzes in diesen Früchten keineswegs vergleichbar ist mit dem symbiotischen Verhältnisse eines Pilzes zum Taumellolch, sondern daß bei *L. perenne* in analoger Weise wie bei dem von mir untersuchten Taumelroggen und wahrscheinlich auch bei anderen Grasfrüchten Infektionen von außen durch Pilze stattfinden, welche mehr oder weniger tief in die Früchte eindringen und das Keimvermögen derselben stören. Während die Früchte von *L. temulentum* außerordentlich gut keimen, trotz der konstanten Anwesenheit eines Pilzes, wurde allgemein beobachtet, daß *L. perenne* ein weit schlechteres Keimvermögen besitzt.

b) **Lolium italicum** A. Br. (= **L. multiflorum** Lam.)

In den Früchten von *L. italicum* A. Br. (aus dem Prager botanischen Garten) habe ich seinerzeit[1] vergebens die charakteristische Hyphenschichte gesucht. Neubauer und Remer[2] sagen, daß sie bei *L. multiflorum* Lam. (= *L. italicum* A. Br. Anm. des Verf.) trotz wiederholten Suchens den Pilz niemals zu Gesicht bekommen haben. Freeman[3] fand unter 57 untersuchten Pflanzen zwei mit dem Pilz.

Die neuerdings von mir durchgeführten Untersuchungen dieser Früchte (bezogen von Haage und Schmidt, Erfurt) ergaben folgende Resultate:

Von 50 untersuchten Früchten zeigten 13 (d. i. 26%) Pilzhyphen in verschiedener Anordnung:

---

[1] L. c. p. 208.

[2] L. c. p. 653.

[3] L. c. p. 19.

a) eine sehr lockere, schmale Pilzschichte zwischen Aleuron- und Nuzellargewebe, an einigen Stellen unterbrochen; dieselben Hyphen vereinzelt zwischen Spelze und Fruchthaut; die Gestalt der Hyphen gleicht denen von *L. perenne;*

b) Hyphenanordnung wie bei *L. temulentum*, doch nicht so dicht;

c) eine verschieden dicke Pilzschichte, der Aleuronschichte außen anliegend; an manchen Stellen ein breites, gegen die Samenschale zu konvexes Polster, pseudoparenchymatisch erscheinend, ein Stroma, von welchem gegen die Samenschale zu sehr zahlreiche Konidien abgeschnürt werden; diese Konidien einzellig, walzenförmig, 12 μ lang, 2·4 μ breit.

Bezüglich einer eventuellen Identität dieses Pilzes mit dem von *L. temulentum* läßt sich nichts Bestimmtes sagen, da aus einer Ähnlichkeit der Hyphen kein Schluß gezogen werden kann. In analoger Weise, wie bei *L. perenne*, wurden auch Kulturen von *L. italicum* angelegt, ferner die nicht gekeimten Früchte und die normal entwickelten Halme untersucht. Die Resultate sind dieselben, wie bei *L. perenne*: die nicht gekeimten Früchte zeigen Pilzhyphen in der oben angegebenen Anordnung; die Halme lassen keine Spur eines Pilzes erkennen.

Man ist also durchaus nicht berechtigt, das eventuelle Vorkommen eines Pilzes in den Früchten von *L. italicum* als identisch zu bezeichnen mit den Verhältnissen bei *L. temulentum.*

Es scheint mir sehr wahrscheinlich zu sein, daß sowohl *L. perenne* als auch *L. italicum*, falls verhältnismäßig zahlreiche Früchte derselben von Pilzen durchsetzt sind, dieselbe physiologische Wirkung äußern wie *L. temulentum* und der sogenannte Taumelroggen.

Bei dieser Gelegenheit bemerke ich, daß es von hohem Interesse wäre, einen Roggen, der sicher als Taumelroggen erkannt wurde, chemisch zu prüfen, ob er dieselben Alkaloide enthält wie *L. temulentum.*

III.

Versuche, den Pilz von Lolium temulentum rein zu kultivieren.

Ein Hauptbestreben bei allen Untersuchungen der Früchte von *L. temulentum* ging dahin, den mit der Pflanze und der Frucht so innig verbundenen Pilz rein zu kultivieren, um ihn eventuell zur Fruktifikation zu bringen, die Spezies zu bestimmen und eine größere Menge dieses Pilzes chemisch zu prüfen, um zu erfahren, ob vielleicht der Pilz allein die im Taumellolch nachgewiesenen Gifte enthält.

Bereits 1898 habe ich vielfache Versuche angestellt, um den unter bestimmten, notwendigen Kautelen aus der Frucht herauspräparierten Pilz auf verschiedenen Nährböden zum Wachstum zu veranlassen. Alle Versuche verliefen resultatlos; wohl entwickelte sich mitunter ein Pilz, der aber sicher nicht dem Taumellolchpilz entsprach.

Freeman[1] teilte die Früchte mit einem gut sterilisierten Messer durch einen Längsschnitt in zwei Teile; die Hälfte mit dem Einschnitte des Kornes wurde weggeworfen, aus der andern Hälfte wurde die Stärke entfernt und die Pilzschichte bloßgelegt. Mit sterilen Nadeln konnte er nun kleine Bestände der Hyphenschichte herauspräparieren. Als Nährböden verwendete er Bierwürzegelatine 2%, Fleischextraktgelatine 2% und destilliertes Wasser.

Der Erfolg war ein negativer.

Ich habe neuerdings Kulturen der unter allen Vorsichtsmaßregeln aus der Frucht isolierten oder der Aleuronschichte noch anhaftenden Hyphen versucht und als Nährböden benützt: Bierwürzegelatine; Bierwürzegelatine plus wässerigen Loliumextrakt (hergestellt aus zerkleinerten Halmen und Früchten von *L. temulentum*); Loliumextrakt allein; Loliumextrakt plus Gelatine, AgarAgar etc. etc.; Kulturen teils in sterilisierten Petrischalen, teils auf Objektträgern, im hängenden Tropfen bei verschiedenen Temperaturen (bis 25° C.). Alle Versuche blieben ohne einen sicheren Erfolg.

---

[1] L. c. p. 12.

Alle diese sorgfältig angelegten Kulturen ergeben, obwohl stets nur ein negatives Resultat zu verzeichnen war, doch eine bemerkenswerte Tatsache: Die in der Frucht von *L. temulentum* zwischen Aleuron- und hyaliner Schichte befindlichen Hyphen eines Pilzes haben unter den genannten Verhältnissen kein weiteres Wachstumsvermögen.

Ich versuchte nun noch auf eine andere Weise den Pilz zu kultivieren.

Ich benützte dazu kleine Gewebestücke mit dem Pilze aus jungen Keimpflanzen, und zwar unterhalb des Vegetationskegels, dem der Pilz beim Wachsen der Pflanze bekanntlich beständig folgt. Das Fernhalten anderer Pilzsporen und namentlich der Bakterien ist bei diesen Versuchen aus naheliegenden Gründen sehr schwierig. Es ist unbedingt notwendig, die betreffenden Gewebestücke samt den deutlich sichtbaren Hyphen zwischen den Zellen bei Beginn der Kultur genau zu zeichnen, um eventuelle Veränderungen mit Sicherheit wahrnehmen zu können.

Ich kann nur einen einzigen, sicheren Fall konstatieren, welcher zeigt, daß bei weiteren Versuchen die Kultur dieses Pilzes auf diese Weise vielleicht doch möglich sein wird: ein Loliumpilzfaden in einem geraden, längeren Interallularraum zeigte auf Bierwürzegelatine plus Loliumextrakt ein Wachstum; die einzelnen Zellen dieses Fadens trieben seitlich etwa 20 bis 30 μ lange Zweige, dann hörte leider das Wachstum aus unbekannten Gründen vollständig auf.

IV.

Eigentümliche Schleifenbildung bei den jungen Pflanzen von L. temulentum L.

Bei einem letzten Versuche, um den Loliumpilz zum Heraustreten aus der Pflanze und eventuell zur Fruktifizierung zu bringen, zeigte sich in der Regel eine eigentümliche, abnormale Bildung, die ich hier kurz erwähnen will, da sie möglicherweise auf den Einfluß des Pilzes in der Pflanze zurückzuführen ist.

Bei diesen Kulturversuchen leitete mich folgender Gedankengang:

Wenn eine mit gut sterilisierten Früchten hergestellte Kultur von *L. temulentum* auf ausgeglühtem Quarzsand oder sterilisiertem Filtrierpapier ohne Zufuhr einer Nährlösung gelassen wird, dann hört das Wachstum, nachdem die Halme 1 bis 1·5 *dcm* Höhe erreicht haben, auf; sie sterben allmählich ab. Es wäre nun denkbar, daß der im Halme aufwärts wachsende Pilz in dieser Lage aus seiner parasitischen Lebensweise in eine saprophytische übergeht, an der Oberfläche des Halmes erscheint und fruktifiziert. Der Erfolg war der, daß in einigen Fällen nach Abschluß des Versuches sämtliche Pflänzchen von einer Fusariumart bedeckt waren, welche nach der Gestalt der Hyphen wahrscheinlich nicht identisch mit dem Taumellolchpilze ist; in anderen kamen verschiedene saprophytische Pilze zur Entwicklung; in seltenen Fällen blieb jede Entwicklung eines Pilzes vollständig aus.

Da bei dieser Gelegenheit die oben erwähnten Schleifenbildungen in der Regel sichtbar wurden, will ich die Versuchsanstellung näher beschreiben. Große, verschließbare Glasschalen wurden im Innern mit Filtrierpapier ausgekleidet oder der Boden mit ausgeglühtem Quarzsand bedeckt und im Heißluft-Sterilisierapparat bei 150° (1^h) sterilisiert.

Um die Taumellolchfrüchte möglichst gut von anhaftenden Pilzkeimen zu befreien, wurden sie 10 bis 15 Min. in $1^0/_0$iger Sublimatlösung gehalten, dann zehnmal mit sterilisiertem Wasser gewaschen und nach 24stündiger Quellung ausgesät. Nach dieser Behandlung gehen fast alle Früchte sehr gut auf.[1]

---

[1] Die Früchte von *L. temulentum* können noch weit mehr vertragen; allerdings ist dann die Zahl der keimenden Früchte weit geringer:

a) $1^0/_0$ Sublimat, 1^h lang eingewirkt; dann gründlich gewaschen; Kulturen bei Lichtabschluß: es keimten normal $69^0/_0$; im Lichte: es keimten $55^0/_0$;

b) 1 Stunde in $2·5^0/_0$ Sublimat, dann gründlich gewaschen. Von 30 Körnern entwickelten sich 6 normal;

c) 24 Stunden in $10^0/_0$ Kupfervitriollösung, dann zehnmal mit sterilisiertem Wasser gewaschen. Erst nach 11 Tagen zeigten sich bei 7 von 48 Früchten kleine Halmspitzen, keine Wurzeln; in 24 Tagen wurden die Hälmchen 10 *cm* hoch; Wurzelbildung blieb vollständig aus.

Bei allen diesen, nach einmaliger Benetzung mit sterilisiertem destillierten Wasser sich selbst überlassenen, bei Lichtabschluß gehaltenen Kulturen zeigte sich stets, bisweilen vereinzelt, öfters jedoch bei allen Pflanzen seitlich an der Achse je eine eigentümliche Schleifen- oder Ringbildung, wie sie meines Wissens bisher nicht beobachtet worden ist.

In einer gewissen, fast konstanten Entfernung von dem hypokotylen Gliede, das bei diesen Kulturen stets sehr in die Länge gestreckt ist, zeigt sich eine Schleifenbildung, deren eines Ende aus dem unteren Teile des Halmes kommt, das andere verläuft in dem oberen Teile (Fig. 5, *s*). Bei genauer Betrachtung sieht man, daß diese Schleife aus einem kleinen Längsriß des Halmes hervorkommt (Fig. 7); der nach aufwärts gehende Teil der Schleife ist in der Regel mehr oder weniger gewellt (Fig. 8); die Schleife kann einen Durchmesser bis zu 2·5 *cm* erreichen. Mitunter entfaltet sich aus der Schleife ein Blatt, welches, entgegen den normalen Wachstumsverhältnissen, nach abwärts zu wachsen scheint und der Pflanze ein sehr eigentümliches Aussehen gewährt (Fig. 9).

Die erste Andeutung dieser abnormen Bildung zeigte sich gewöhnlich in ungefähr 18 Tagen nach Anlegung der Kultur, bisweilen bereits nach 12 Tagen; in 25 Tagen waren mitunter sämtliche Pflanzen mit diesen Schleifenbildungen versehen; die Halme selbst waren 1 bis 1·5 *dcm* hoch, seltener nur 6 bis 9 *cm*. Nebenbei sei bemerkt, daß alle Pflanzen an der Austrittsstelle der Schleife eine starke Ausscheidung liquiden Wassers zeigen.

Zur Erklärung dieser Bildungen ist folgendes zu sagen:

Fig. 5 stellt eine derartige Pflanze mit Schleifenbildung in natürlicher Größe dar. Durch vorsichtiges Ziehen gelingt es, die obere, zur Schleife gehörige gelbliche Achse (Fig. 6, *b*) aus der oben vollständig geschlossenen farblosen Hülle (Fig. 6, *k*) herauszuziehen. Diese Hülle (*k*) ist das scheidenförmige Keimblatt, die Schleife (*s*) und der aus dem Keimblatt herausgezogene Teil sind die Hauptachse des Halmes. Während bei normalem Wachstum das Keimblatt eine kurze, oben offene Röhre darstellt, aus welcher zunächst das erste Laubblatt hervorkommt, ist bei diesen abnormalen Bildungen das Keimblatt

gleichmäßig mit der Achse des Halmes emporgewachsen und bedeckt diesen wie mit einer langen Kappe vollständig. Während das Keimblatt sein Wachstum bald vollständig einstellt, schreitet die Entwicklung des Halmes durch die Tätigkeit des Vegetationskegels (*v*) weiter vorwärts, und da das erste Laubblatt eben infolge der geschlossenen Hülle sich nicht weiter emporstrecken kann, so wird das scheidenförmige Keimblatt an der lebhaften Wachstumszone der Halmachse durchbrochen; es entsteht ein kleiner Spalt, durch welchen nun naturgemäß eine kleine Schleife zum Vorschein kommen muß. An dem unteren Teile der Schleife liegt, wie die anatomische Untersuchung zeigt, der Vegetationskegel (Fig. 6, 8, 9, *v.*), durch dessen Tätigkeit die folgenden Blätter entstehen. Beachtet man die Lage dieses Vegetationskegels und die (in Fig. 9 durch einen Pfeil angedeutete) Wachstumsrichtung in der Schleife, so wird es ohneweiters verständlich, daß das nächste sich aus der Schleife entwickelnde Blatt gezwungen wird, eine Wachstumsrichtung einzunehmen, die der der Hauptachse der Pflanze gerade entgegengesetzt ist. Solche Formen, wie die in Fig. 9 abgebildete, findet man nicht selten.

Die Schleifenbildung bei den in der angegebenen Weise angelegten Kulturen von *L. temulentum* entsteht, wie schon gesagt, zahlreich im Dunkeln, seltener im Lichte; die Höhe der Kulturgefäße ist dabei ganz gleichgültig.

Die genau unter denselben Bedingungen angelegten Kulturen von *L. perenne* und *L. italicum* zeigten niemals jene Schleifenbildung; auch hier ist bei Kulturen unter Lichtabschluß das hypokotyle Glied stets sehr lang gestreckt; darauf folgt das scheidenförmige Keimblatt, das jedoch stets eine oben offene Röhre bildet, durch welche die Halmachse emporwächst, so daß sich die Laubblätter normal entfalten können.

Bei Hafer, Gerste, Roggen, Weizen und Mais konnte gleichfalls niemals eine derartige abnorme Bildung beobachtet werden.

Ob die Ursache der Schleifenbildung bei *L. termulentum* in besonderen morphologischen Verhältnissen dieser Keim-

pflanze oder in dem Einflusse des hier stets vorhandenen Pilzes liegt, kann ich nicht entscheiden.

Bezüglich des Vorkommens des Pilzes in einer Taumellolchpflanze mit Schleifenbildung ist folgendes zu sagen:

Im hypokotylen Gliede (Fig. 9, *h*) habe ich nur ausnahmsweise Hyphen in den Interzellularen angetroffen, welche nach Form und Dicke wahrscheinlich nicht dem Taumellolchpilz angehören; oberhalb der Nebenwurzeln (*n*) wurden die charakteristischen Hyphen stets, jedoch nur in geringer Menge gefunden, dagegen sehr zahlreich unmittelbar unter dem Vegetationskegel (*v*); der aus dem oben geschlossenen Keimblatte herausgezogene Halm (*b*) sowie das Keimblatt selbst haben den Pilz nicht.

Erklärung der Abbildungen.

Lolium perenne L.

Fig. 1, 2: Querschnitt durch die Frucht, *sp* = Spelze; *f* = Epidermis der Fruchthaut; *n* = Nuzellargewebe; *h* = Hyphenschichte; *a* Aleuronschichte. V. 300.

Fig. 3. Aleurongewebe mit anliegenden Hyphen nach Behandlung mit verdünnter Kalilauge; Flächenansicht. V. 300.

Fig. 4. Isolierte Hyphen aus einer noch nicht reifen Frucht, zwischen Aleuron- und Nuzellarschichte. V. 300.

Lolium temulentum L.

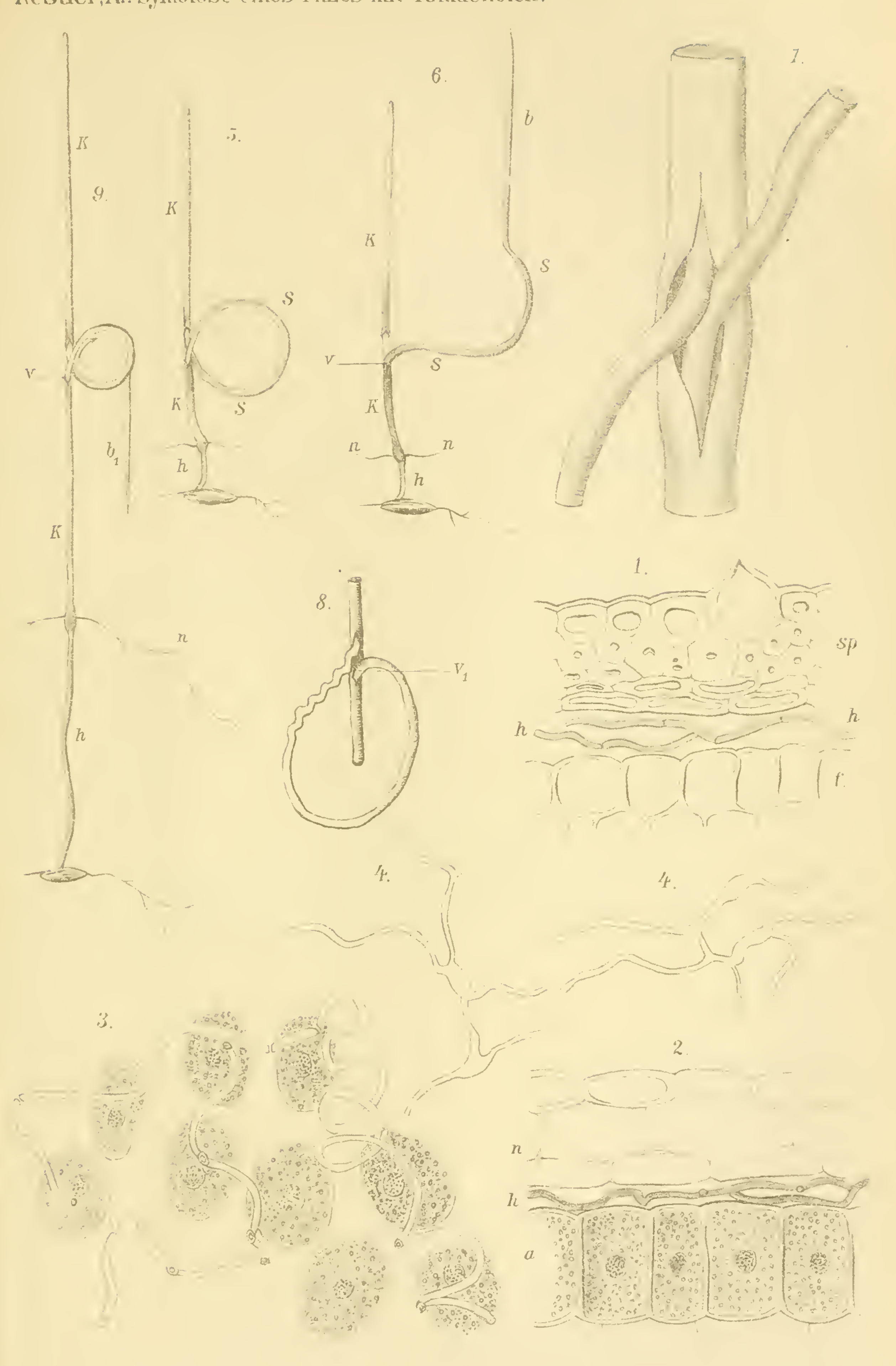
Fig. 5, 6: Keimpflanze mit eigentümlicher Schleifenbildung. *h* = hypokotyles Glied; *k* = Keimblatt; *s* = Schleife; *v* = Lage des Vegetationskegels; *b* (Fig. 6) = der aus dem scheidenförmigen Keimblatt (*k*) herausgezogene Halm. Natürliche Größe.

Fig. 7. Ein Teil des Halmes an der Austrittsstelle der Schleife. Schwach vergrößert.

Fig. 8. Schleife schwach vergrößert; der obere Teil (*a*) wellenförmig gestaltet; *v* = Lage des Vegetationskegels.

Fig. 9. Keimpflanze mit Schleifenbildung, aus welcher sich das erste Laubblatt (b_1) entwickelt hat. Natürliche Größe.

Nestler, A.: Symbiose eines Pilzes mit Taumellolch.



N. d. N. gez. von A. Nestler

Lith. Anst. v. Th. Bannwarth, Wien.